Aus dem Robert Koch-Institut, Berlin
(Direktor: Prof. Dr. G. HENNEBERG)

Zum Nachweis aerogen übertragener Viren
Versuche über die Sedimentation von Virus in Aerosolen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
JAKOB PETMEZAKIS
aus Samos

1966

Dekan: Prof. Dr. med. Alfred Witt

Referent: Prof. Dr. med. Georg Henneberg

Korreferent: Prof. Dr. med. Bernhard Schmidt

Gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin

promoviert am 5. November 1966

Meinen lieben Eltern

meinem verehrten Lehrer,
Herrn Professor Dr. HENNEBERG,
in dankbarer Ergebung gewidmet

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

Nicht einzeln im Buchhandel! Überreicht vom Verfasser

Sonderdruck aus dem

Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten und Hygiene

1 Orig. **201** S. 273-301 (1966)

Gustav Fischer Verlag · Stuttgart

Aus dem Robert Koch-Institut, Berlin

(Direktor: Prof. Dr. G. Henneberg)

Zum Nachweis aerogen übertragener Viren Versuche über die Sedimentation von Virus in Aerosolen

Jakob Petmezakis

Mit 9 Abbildungen im Text

Eingegangen am 4. März 1966

Der Hospitalismus, seine Ursachen und seine Bekämpfung stellen die damit beschäftigten Wissenschaftler vor schwierige Aufgaben. Von entscheidender Bedeutung ist die Erforschung der Verbreitungsweise von Krankheitserregern, speziell der aerogenen Übertragung.

Auf dem Internationalen Symposium über Pockenimpfung, Lyon, 1962, hat Mac Callum versucht, die Problematik der Pockenvirusübertragung einmal auf Pockenstationen selbst und zum anderen in der näheren und weiteren Umgebung von Krankenhäusern zu klären, wobei er dem Entweichen von virushaltigen Aerosolen aus den Fenstern eine große Bedeutung beimaß. Er zitierte die Untersuchungen von Power (1885), welcher 1000 Häuser in der Umgebung eines Pockenkrankenhauses systematisch kontrollierte und das typisch abgestufte Auftreten von Pockenfällen feststellte, worauf sich die ursprünglichen Theorien über die Verbreitung der Infektion auf dem Luftwege stützten. Auf welche Weise die Übertragung der Pocken in der Nähe von Krankenhäusern zustande kommt bzw. ob sie dem Zufall zuzuschreiben ist, konnte auch von Mac Callum nicht mit Sicherheit geklärt werden. Nach seiner Meinung steht es jedoch fest, daß innerhalb von Pockenabteilungen infektiöse Aerosole entstehen, die sich auf dem Luftwege verbreiten können. Zur Klärung dieser Frage seien aber sorgfältig durchzuführende Untersuchungen erforderlich.

Eine besondere Aktualität gewann dieses Problem durch die Pockenausbrüche 1961/62 in Nordrhein-Westfalen (Lammersdorf-Simmerath, Kreis Monschau). Dazu beschrieb Anders (1963), daß das erkrankte 9jährige Mädchen durch Husten auf eine Entfernung von 20 Metern Personen innerhalb des Krankenhauses infiziert haben soll.

Als Inaugural-Dissertation der Medizinischen Fakultät an der Freien Universität Berlin, 1966.

Es sollte das Ziel dieser Arbeit sein, durch Untersuchung der Dynamik eines infektiösen Aerosols genauere Kenntnis über den Wirkungsmechanismus der aerogenen Übertragung virusbedingter Krankheiten zu erlangen. Zu diesem Zweck sollten Experimente mit virushaltigem Aerosol

A) in der Tröpfchenphase

B) in der Staubphase

durchgeführt werden, unter Berücksichtigung verschiedener Faktoren, die in der Luft wirken und einen Einfluß auf Aerosole haben können.

Eigenschaften der Aerosole

Die in der Luft befindlichen Keime liegen in Aerosolform vor, und für das mikrobielle Aerosol gelten die gleichen physikalisch-chemischen Gesetze wie für industrielle Aerosole.

Unter Aerosolen versteht man kolloide Systeme mit gasförmigen Dispersionsmitteln. Flüssige kolloid verteilte Substanzen sind Nebel, im festen Zustand sind es Staube. Bei einem isodispersen Aerosol sind alle Bestandteile von gleicher Größenordnung; ein polydisperses Aerosol setzt sich aus Partikeln unterschiedlicher Größe zusammen. Die in einem Aerosol enthaltenen Schwebepartikel können verschieden groß sein. Man unterscheidet grobdisperse ($> 10^{-5}$ cm Durchmesser), kolloiddisperse (10^{-5} bis 10^{-7} cm Durchmesser) und molekulardisperse Systeme ($< 10^{-7}$ cm Durchmesser) (Carlson 1960/1961).

Im Vergleich zu anderen kolloiden Systemen sind Aerosole im allgemeinen sehr grobteilig (Sirgenson und Straumanis 1949). So ist es schwierig, Aerosole zu erhalten, deren Partikelgröße unter 200 mμ liegt. Kondensations-Aerosole (d.h. Aerosole mit kondensierten Tröpfchen) weisen vorwiegend Partikel auf, deren Durchmesser etwa 600 mμ beträgt, jedoch sind auch häufig Partikel bis zu ca. 20 mμ Durchmesser anzutreffen.

Die Konzentrationen der Aerosole liegen im allgemeinen zwischen 1–1000 mg/m³. Bei höheren Konzentrationen können die Partikel nicht längere Zeit schwebefähig bleiben, da sie koagulieren und sedimentieren. Durch das Sedimentieren gehen die Aerosole in Aerogele über (Gele entstehen durch Zusammentreten kleinster primärer Teilchen eines Sols zu größeren sekundären Teilchen) – ein Vorgang, welcher für die Aerosol-Abscheidung von Bedeutung ist. Nur für grobe Staubpartikel und Tröpfchen, deren Durchmesser größer als 2 μ ist, gilt die Stokessche Widerstandsgleichung (siehe Seite 286).

Die Stabilität eines Aerosols ist abhängig von verschiedenen Umweltbedingungen, wie z.B. von der elektrischen Raumladung, der Luftbewegung, den Temperaturdifferenzen, dem Verdünnungsgrad sowie vom physikalischen und chemischen Charakter des Dispersionsmittels (Kliewe und Wasielewski 1952).

Physikalische und chemische Eigenschaften eines Dispersionsmittels können einen Einfluß auf das Aerosol ausüben, so ist z.B. beim Vernebeln von nichteiweißhaltigen Flüssigkeiten die Wasserverdunstung beschleunigt und somit der Umfang der Tröpfchen verringert (Gaidamovich und Vlodavets 1963). Es können also Viruspartikel in einer nichteiweißhaltigen Flüssigkeit längere Zeit und in größeren Konzentrationen schwebefähig bleiben als in eiweißhaltigen Flüssigkeiten.

Es besteht jedoch Grund zu der Annahme, daß die Umweltfaktoren (Brownsche Molekularbewegung, elektrische Raumladung) einen größeren Einfluß auf die Stabilität eines Aerosols ausüben als die Eigenschaften des dispersen Anteils selbst. Beim Vorliegen eines Aerosols mit äußerst fein dispersen Schwebepartikeln tritt eine relativ rasche Agglomeration der Partikel ein, wobei für den Durchmesser ein Mittelwert von 2,5 μ resultiert. Ist dieser Wert erreicht, so kommt es bei hoher Konzentration des entsprechenden Aerosols zum Stillstand der Agglomeration (Remy 1949).

Eigene Untersuchungen

Vorversuche

Als Modell für die Vorversuche wurden Bakteriophagen gewählt, da sie keine Pathogenität besitzen, gut nachweisbar sind und wenig Vorbereitungszeit erfordern. In den Vorversuchen interessierten in erster Linie:

1. Die Anwendbarkeit des Kochschen Absetzverfahrens (R. Koch)
2. Schwebedauer
3. Die Abhängigkeit der Sedimentationstendenz von der Luftfeuchtigkeit in der Experimentierkammer.

Material und Methoden

Für die Durchführung der Vorversuche wurde eine luftdicht abgeschlossene Kammer mit einem Luftvolumen von 387 l verwendet, in welcher mittels eines Medikamentenvernebelers (Typ MV-1 der Firma Drägerwerke, Lübeck) eine T_3-Bakteriophagen-Suspension vernebelt wurde.

Die Vernebelerdüse ist an eine Preßluftflasche angeschlossen, aus welcher Gas durch das Flaschenventil in einen Druckminderer strömt (siehe Abb. 1). Hier wird es auf einen geringeren Arbeitsdruck reduziert und strömt dann in variierbaren Mengen durch das Tauchrohr und die Vernebelerdüse in das Vernebelerglas. Beim Passieren der Düse saugt das Gas die phagenhaltige Flüssigkeit an und vernebelt sie. Die Düse soll im Hauptprozentsatz Partikel von 1–5 μ Durchmesser[1] erzeugen, es wurde jedoch keine Aufgliederung in bezug auf die Partikelgröße durchgeführt.

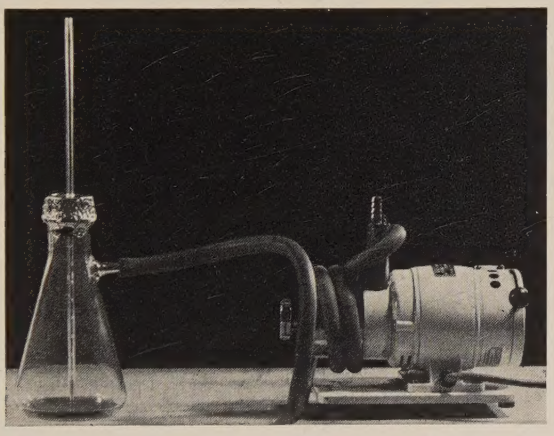


Abb. 1. Saugflasche, angeschlossen an eine Vakuumpumpe.

Bei der Untersuchung des Verhaltens phagenhaltiger Aerosole sollten Methoden und Apparate angewendet werden, die

a) leicht und schnell zu handhaben sind,
b) eine gleich gute Anwendbarkeit auf grobe wie auf kleine phagen- bzw. virushaltige Staubpartikel besitzen,
c) die rasche Erfassung möglichst aller Phagen (bzw. Vaccinia-Viren) oder phagenbeladener Partikel pro Luftvolumen gewährleisten und
d) die Feststellung auch kurzfristiger Änderungen der Phagen- bzw. Viruskonzentrationen ermöglichen.

Aus dem Schrifttum sind zahlreiche Verfahren zum Nachweis oder zur Zählung in der Luft befindlichen lebenden Mikroorganismen bekannt (Albrecht 1955).

Neben den von Albrecht (1955) genannten Methoden werden auch optische Verfahren zum Nachweis von Mikroorganismen in der Luft verwendet (Ferry, Farr und Hartman 1949, Ferry, Farr et al. 1951, Gucker und O'Konski 1949). Diese Methoden sind jedoch insofern von Nachteil, als sie eine Differenzierung bzw. Spezifizierung der Mikroorganismen nur sehr schwer oder überhaupt nicht zulassen.

[1] Nach Auskunft der Drägerwerke, Lübeck, liegt der Mittelwert der Partikeldurchmesser bei 2μ.

Das Kochsche Sedimentationsverfahren beruht auf dem Prinzip, daß durch die Exposition von Platten die in der Luft schwebenden Teilchen nachgewiesen werden können. Allerdings ist dieses Verfahren im Vergleich zu dem in den Hauptversuchen beschriebenen Aspirationsverfahren nicht exakt genug, hat jedoch den Vorteil, daß die Atmosphäre der Experimentierkammer nicht „verletzt" wird. Vernebelt wurden 0,8 ml einer mit Bouillon verdünnten Bakteriophagensuspension, die 18000 Einheiten pro ml enthielt.

Die Luftfeuchtigkeit wurde vor jedem Versuch durch Versprühen von Wasser mit einer Spritzflasche eingestellt, wobei darauf zu achten war, daß die zur Erreichung der Luftfeuchte zunächst noch notwendigen Wassertröpfchen vor der darauffolgenden Phagenvernebelung aussedimentiert waren. Die relative Luftfeuchte wurde während der Versuche mit einem Hygrometer kontrolliert. Für die Durchführung des Kochschen Sedimentationsverfahrens wurden Petrischalen benutzt, die mit Colistamm „B" beimpften Blauagar enthielten. Nach Beendigung der Versuche wurden die Schalen 24 Std. lang im Brutschrank bei 37°C bebrütet.

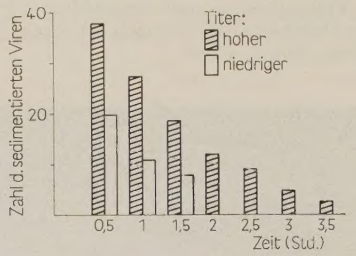


Abb. 2. Vergleich der Sedimentation eines Virusaerosols mit hohem und niedrigem Titer.

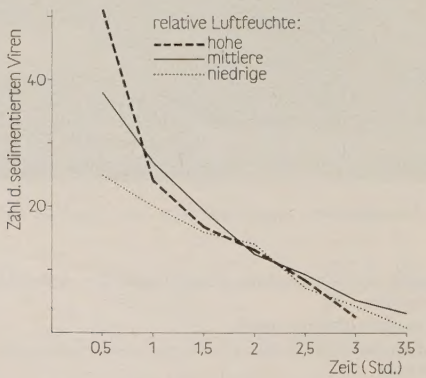


Abb. 3. Abhängigkeit der Sedimentation eines Virusaerosols von der relativen Luftfeuchte.

Ergebnisse der Vorversuche

1. Experiment zur Feststellung der Schwebedauer bzw. der Sedimentationstendenz eines Phagen-Aerosols:

Die vorbereiteten Platten wurden an drei verschiedenen Stellen der Kammer (in Tabelle 1 mit I, II und III bezeichnet) je 10 min lang zu verschiedenen Zeiten exponiert, und zwar während der Vernebelung, unmittelbar danach sowie 30 min, 1 Std., 1,5 Std., 2 Std. und 2,5 Std. nach der Vernebelung. Die

Tabelle 1

Schwebedauer und Sedimentationstendenz der T_3-Phagen

Zeit der Exposition	Entnahmestellen	Anzahl der Phagen pro Schale	Relative Luftfeuchte	Temperatur
Vor Vernebelung Leerkontrolle		⌀	50%	20° C
Während der Vernebelung	I II III	++	53%	21° C
Unmittelbar nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	30 25 23	54%	21,5° C
30 Minuten nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	14 16 17	53%	21° C
1 Stunde nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	11 14 12	49%	21,2° C
1,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	7 4 3	49%	21° C
2 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	⌀	50%	21,1° C
2,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	⌀	50%	21° C

Zeichenerklärung:

++ Phagen nicht zählbar
⌀ keine Phagen

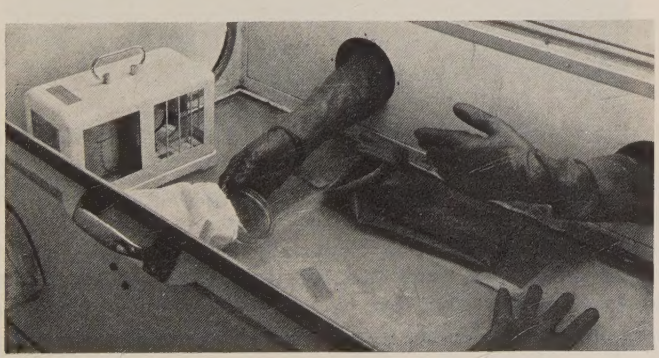


Abb. 4. Einführung der mit Blauagar und Coli B/am beschickten Petrischalen in die Experimentierkammer.

relative Luftfeuchte in der Experimentierkammer entsprach der in unseren geographischen Breiten in Räumen herrschenden Feuchtigkeit (40–50%), die Temperatur lag bei etwa 20–22°C. Die hierbei gewonnenen Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt; aus ihr geht hervor, daß 1,5 Std. nach der Vernebelung noch Phagen in der Luft nachweisbar sind.

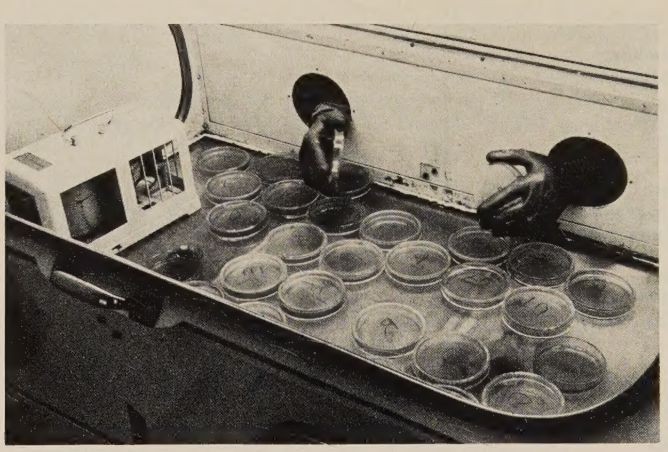


Abb. 5. Öffnen und Schließen der Petrischalen während des Versuches, links das Hygrometer zur Messung der Luftfeuchtigkeit.

Abb. 6. Geschlossener FL-Zellrasen, der zum Nachweis des Virusaerosols verwendet wurde. (Mikroskopische Aufnahme, Vergrößerung 1:80).

2. Experiment zur Untersuchung des Einflusses der verminderten relativen Luftfeuchte:

Zur Erreichung einer niedrigeren relativen Luftfeuchte wurden auf de Boden der Experimentierkammer zwei Schalen mit trockenem Kalziumchlorid gestellt. In 20 Std. sank die relative Luftfeuchte auf 16–20% ab, was

für die durchzuführenden Bestimmungen ausreichend war. In Tabelle 2 sind die dabei erhaltenen Resultate dargestellt.

Die Anzahl der auf den Petrischalen nachgewiesenen Phagen war im Gegensatz zu den bei normaler Luftfeuchte gefundenen Mengen vermindert; bei niedriger Luftfeuchte nahm auch die Phagenkonzentration in der Kammer langsamer ab.

Tabelle 2

Sedimentationstendenz des T_3-Phagenaerosols bei verminderter relativer Luftfeuchte

Zeit der Exposition	Entnahmestellen	Anzahl der Phagen pro Schale	Relative Luftfeuchte	Temperatur
Vor Vernebelung (Leerkontrolle)		ø	17%	22°C
Während der Vernebelung	I II III	+	17%	22,2°C
Unmittelbar nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	20 17 19	17%	22,3°C
30 Minuten nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	11 14 10	20%	22,2°C
1 Stunde nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	7 6 8	20%	22,3°C
1,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	4 3 2	20%	22,4°C
2 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	ø	20%	22,5°C
2,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	ø	18%	22,5°C

Zeichenerklärung:
+ an der Grenze der Zählbarkeit
ø keine Phagen

3. Experiment über den Einfluß der erhöhten relativen Luftfeuchte auf die Schwebedauer des T_3-Phagen-Aerosols:

Die Versuchsanordnung blieb die gleiche wie in den Experimenten 1 und 2. Zur Erreichung der gewünschten relativen Luftfeuchte wurde, wie auf Seite 276 beschrieben, verfahren (Kontrolle mittels eines Hygrometers). Tabelle 3 zeigt, daß bei hoher Luftfeuchte während der ersten 30 min bedeutend mehr T_3-Phagentröpfchen sedimentierten als bei mittleren oder niedrigen Luftfeuchten. In der darauffolgenden Zeit wurde jedoch eine kontinuierliche Abnahme der Sedimentation beobachtet. Die große Anzahl an T_3-Phagen, die in den ersten 30 min nach der Vernebelung sedimentierten, bewirkte eine

rapide Abnahme der Phagenkonzentration, was wiederum eine Verkürzung der Schwebedauer zur Folge hatte.

Die in den Vorversuchen erhaltenen Ergebnisse über den Einfluß der Schwebedauer und der relativen Luftfeuchte werden zusammen mit denen der Hauptversuche am Ende der Arbeit diskutiert werden.

Tabelle 3

Sedimentationstendenz des T_3-Phagenaerosols bei erhöhter relativer Luftfeuchte

Zeit der Exposition	Entnahmestellen	Anzahl der Phagen pro Schale	Relative Luftfeuchte	Temperatur
Vor Vernebelung (Leerkontrolle)		∅	88%	21°C
Während der Vernebelung	I II III	++	90%	21,1°C
Unmittelbar nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	+	91%	21,2°C
30 Minuten nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	40 51 44	89%	21°C
1 Stunde nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	32 28 36	88%	20,8°C
1,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	∅	87%	20,8°C
2 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	∅	85%	20,8°C
2,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	∅	80%	20,7°C

Zeichenerklärung:

++ unzählbar
\+ an der Grenze der Zählbarkeit
∅ keine Phagen

Hauptversuche

A. Tröpfchenphase

Material und Methoden

Zur Durchführung der Hauptversuche wurden die bereits in den Vorversuchen benutzte Experimentierkammer und die Düse verwendet. Es wurde eine wie folgt hergestellte Vaccinia-Virussuspension versprüht:

Die Suspension wurde aus Kälberrohstoff gewonnen, der mit gepufferter Kochsalzlösung und Glyzerin (2 g Rohstoff + 2 ml NaCl + 6 ml Glyzerin) vermahlen worden war. Diese Suspension wurde mit Hanks-Medium + LH (Laktalbuminhydrolysat, Hefeextrakt)

verdünnt (Henneberg und Köhler 1961) und 10 Min. lang bei 3° C und 1000 Upm zentrifugiert. Wiederholte Titerbestimmungen ergaben Werte von ca. $5 \cdot 10^7$ Einheiten/ml.

In diesem Versuchsteil haben sich zwei Verfahren gut bewährt:

1. Das Kochsche Absetzverfahren ohne Messung des Luftvolumens
2. Das Aspirationsverfahren.

1. Das Kochsche Absetzverfahren

Zum Nachweis von Viren mittels des Kochschen Absetzverfahrens wurden in Plastikschalen von 5,5 cm Durchmesser Zellen des FL-Stammes angezüchtet. Um innerhalb einer Inkubationszeit von 48 Std. bei 37° C die Bildung eines geschlossenen Zellrasens zu erzielen, wurden in jede Schale 6 ml Zellsuspension einpipettiert (140000 bis 160000 Zellen pro Milliliter).

2. Das Aspirationsverfahren

Für dieses Verfahren wurde der vereinfachte „capillary-impinger" nach Rosebury (1947) benutzt (siehe Abb. 1). Das Gerät besteht aus einer Saugflasche mit einem Fassungsvermögen von 500 ml, die mit einem durchbohrten Gummipfropfen verschlossen ist. In der Durchbohrung steckt eine 1mm-Pipette, die mit ihrer Spitze ca. 3 bis 5 mm über den Boden der Saugflasche ragt und in die Waschflüssigkeit taucht. Die Saugflasche ist an eine Pfeiffer-Vakuumpumpe angeschlossen. Das Quantum der zu fördernden Luft hängt bei konstanter Saugkraft der Pumpe vom Durchmesser der unteren Pipettenöffnung ab; es betrug bei den von uns verwendeten Waschflaschen zwischen 9,5 und 10,0 l/Min. Die Luftmenge wurde mit einer Gasuhr gemessen.

Beim Aspirationsverfahren werden die in der Luft befindlichen Partikel infolge der hohen Strömungsgeschwindigkeit der Luft in der Pipette an Glasboden und Wasseroberfläche ausgeschleudert und in der Waschflüssigkeit angereichert.

Bei den durchgeführten Versuchen wurde als Waschflüssigkeit die im Robert Koch-Institut modifizierte Hanks-Lösung + LH verwendet (Henneberg und Köhler 1961). Durch Zusatz von Silicon-Antischäumemittel (SH) wurde versucht, das Schäumen der Hanks-Lösung und den Verlust feiner Wassertröpfchen einzuschränken bzw. eine Koagulation der Viren in der Lösung zu vermeiden. Das Wiegen der Waschflüssigkeit vor und nach dem Versuch ergab, daß die Verluste ganz unwesentlich waren. Außerdem war noch ein Zusatz von Antibiotika notwendig, um zufällige bakterienhaltige Luftbeimengungen möglichst auszuschalten.

Experimente

1. Experiment

Zur Vereinfachung der folgenden Experimente war als erstes die Verteilungstendenz des Aerosols zu untersuchen. Stellte es sich heraus, daß diese gleichmäßig war, so brauchten in den darauffolgenden Versuchen die Verhältnisse nur an einer Entnahmestelle geprüft zu werden.

Die Platten wurden an drei verschiedenen Stellen der Kammer (in Tabelle 4 mit I, II und III bezeichnet) je 10 min lang zu verschiedenen Zeiten exponiert, und zwar während der Vernebelung (ca. 2 min), unmittelbar danach sowie 30 min, 1 Std., 1,5 Std., 2 Std., 2,5 Std., 3 Std. und 3,5 Std. nach der Vernebelung. Die relative Luftfeuchte in der Experimentierkammer betrug 40–50%, die Temperatur lag bei etwa 20–22° C.

Es wurden 0,5 ml Virussuspension (Titer: $5 \cdot 10^7$/ml) in 2 min vernebelt, insgesamt also 25000000 Viren. Wenn man annimmt, daß jeder Tropfen einen CPE (cytopathogenen Effekt) auf der Zellschicht bildet, dann ist durch die Experimente erwiesen, daß die großen Tropfen auf den zuerst exponierten Platten (während und unmittelbar nach der Vernebelung) durch ihr starkes Sedimentationsbestreben große CPE-Stellen verursachten, während Tröpfchen von geringerer Größenordnung kleinere CPE-Stellen bildeten. Die für den CPE erhaltenen und in Tabelle 4 angegebenen Werte zeigen, daß die

Viren sich 30 min nach der Vernebelung gleichmäßig in der Kammer verteilten. Die Höhe der Virusmenge sowie die starke Ausprägung der CPE während der Vernebelung und unmittelbar danach (siehe Abb. 7a) kann als Beweis dafür angesehen werden, daß große Mengen an Aerosoltröpfchen sedimentierten und unter Umständen gegebenenfalls in der Luft der Kammer befindliche feinere Partikel mit zu Boden rissen, die sich vielleicht sonst weiterverbreitet hätten.

In Vorversuchen war festgestellt worden, daß die Ausbeute größer ist, wenn die Zellschicht der Platten, die der Luft ausgesetzt werden, mit nicht mehr als etwa 1 ml Medium versehen sind, wodurch das Austrocknen verhindert werden sollte. Nach Beendigung des Versuches wurden in die Platten

Tabelle 4

Verteilungstendenz des Virusaerosols

Zeit der Exposition	Entnahmestellen	Anzahl der CPE pro Schale	Relative Luftfeuchte	Temperatur
Vor Vernebelung (Leerkontrolle)		⌀	50%	21°C
Während der Vernebelung	I II III	+++	52%	21°C
Unmittelbar nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	++	53%	21,1°C
30 Minuten nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	35 27 30	51%	21,1°C
1 Stunde nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	22 27 17	49%	21,2°C
1,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	19 15 14	49%	21,3°C
2 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	10 14 11	50%	21,3°C
2,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	9 10 4	50%	21,4°C
3 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition	I II III	5 4 6	50%	21,5°C
3,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	I II III	3 2 ⌀	50%	21,7°C

Zeichenerklärung:

+++ starke CPE-Bildung
++ mäßige CPE-Bildung
⌀ keine CPE-Bildung

5 ml Erhaltungsmedium einpipettiert (Parker-Medium 199 und 2% Kälberserum) (Henneberg und Köhler, 1961). Die so mit dem Medium beschickten Platten wurden in einen CO_2-Topf gestellt und dieser in einem Brutschrank untergebracht. Nach 3 Tagen Bebrütung wurden die Platten auf CPE untersucht. Bei Durchführung der Versuche wurde festgestellt, daß der CPE auf denjenigen Platten, die 3,5 Std. nach Vernebelung exponiert worden waren (siehe Abbildung 7e), erst nach dem 4. oder 5. Tag gut abzulesen war. Aus diesem Grunde wurde nach dem 3. Bebrütungstag das Medium gewechselt, um die Zellen zu erhalten.

Hier sei noch hinzugefügt, daß in jedem Versuch vor Beginn der Vernebelung Platten exponiert wurden, um eventuell noch vorhandene Viren nachzuweisen. Diese Platten werden in den Tabellen als Leerkontrollen bezeichnet. In Tabelle 4 sind die Ergebnisse dieser Kontrollen eingetragen.

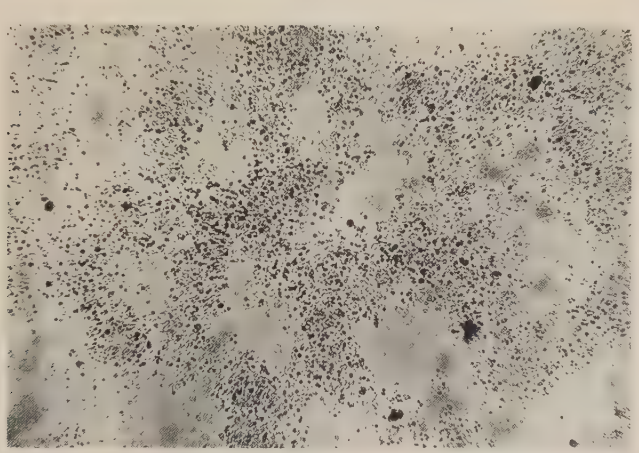


Abb. 7a. Reichliche CPE-Bildung bei Platten aufgestellt unmittelbar nach der Vernebelung des Virusaerosols.

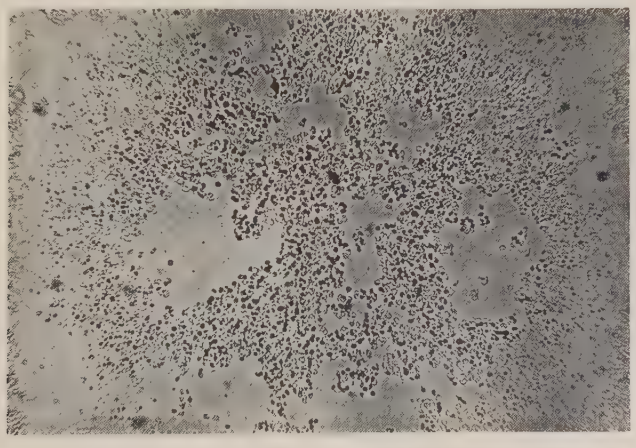


Abb. 7b. eine halbe Stunde nach der Vernebelung

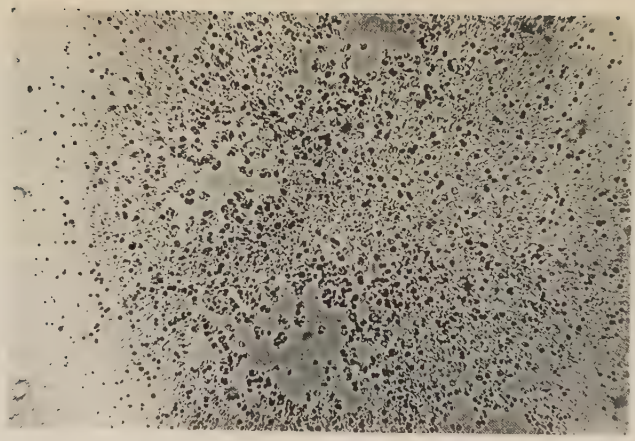


Abb. 7c. 1 Stunde nach der Vernebelung

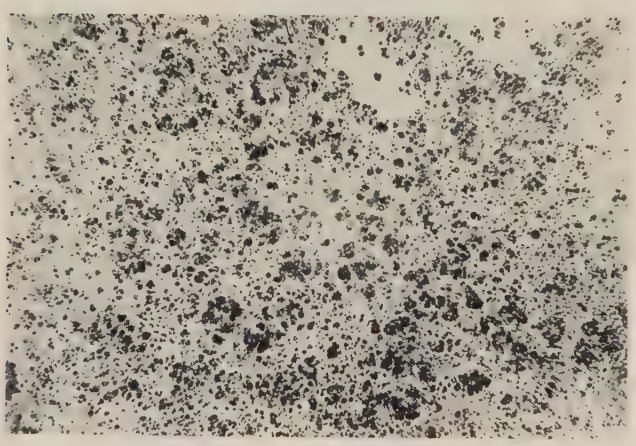


Abb. 7d. 2 Stunden nach der Vernebelung

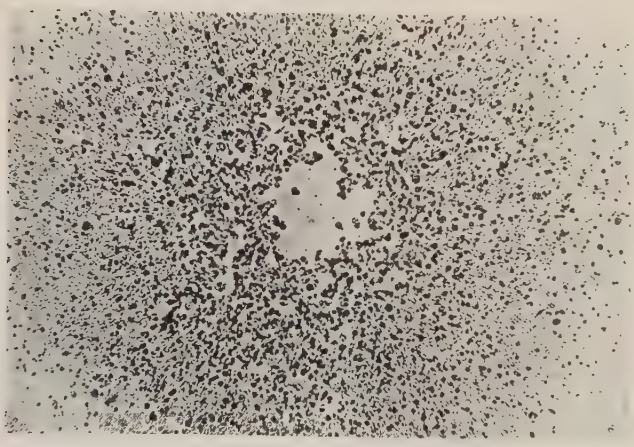


Abb. 7e. 3,5 Stunden nach der Vernebelung
(Mikroskopische Aufnahme, Vergrößerung 1:80).

Eine UV-Bestrahlung der Experimentierkammer 24 Std. vor Beginn der Versuche zur Vermeidung von Verunreinigungen erwies sich als zuverlässig.

2. Experiment

Die Schwebedauer bzw. die Sedimentationstendenz eines Virusaerosols wurde nur an einer Entnahmestelle der Kammer bei sonst gleicher Versuchsanordnung untersucht. Die dabei erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 5 eingetragen. Aus Tabelle 5 geht hervor, daß nach 3,5 Std. keine CPE abzulesen waren. Um nachzuprüfen, ob sich 3,5 Std. nach der Vernebelung noch Viren in einem relativ langdauernden Schwebezustand befanden, wurde die Luft mittels des Aspirationsverfahrens 5 min lang abgesaugt (ca. 40–50 l). Danach wurde die Waschflüssigkeit gut gemischt und eine Vierkant-

Tabelle 5

Schwebedauer bzw. Sedimentationstendenz des Virusaerosols

Zeit der Exposition	Anzahl der CPE pro Schale	Relative Luftfeuchte	Temperatur
Vor Vernebelung (Leerkontrolle)	ø	53%	22°C
Während der Vernebelung	+++	53%	22°C
Unmittelbar nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	++	52%	21,8°C
30 Minuten nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	38	55%	21,9°C
1 Stunde nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	27	54%	22°C
1,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	19	53%	22,3°C
2 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	12	50%	22,2°C
2,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	9	50%	22,5°C
3 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	5	50%	22,5°C
3,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	3	49%	22,5°C

Zeichenerklärung:

+++ starke CPE-Bildung
++ mäßige CPE-Bildung
ø keine CPE-Bildung

flasche mit 1 ml beimpft. Nach einer Bebrütungsdauer von 3 bzw. 4 Tagen war in der Vierkantflasche kein CPE festzustellen. Die Behauptung, daß nach 3,5 Std. alle Viren sedimentierten, wäre nicht exakt. Präziser erscheint die Aussage, daß die Nachweisbarkeitsgrenze bei 3,5 Std. nach der Vernebelung liegt. Es ist anzunehmen, daß die Grenze der Nachweisbarkeit von der „infection multiplicity" abhängig ist (d.h. von der Zahl der infektiösen Virusteilchen im Verhältnis zur Zahl der verfügbaren). Diese nimmt mit der Zeit ab, so daß eine CPE-Bildung nicht mehr möglich ist.

Sollen die Sedimentationsverhältnisse nach dem Stokesschen Gesetz untersucht werden, so ist die Fallgeschwindigkeit (W) für Teilchen von 2,5 $\times$ 10^{-4} cm Durchmesser wie folgt zu errechnen:

$$W = \frac{2}{9} \cdot \frac{r^2 g}{\mu} \cdot$$

$r = 1{,}25 \cdot 10^{-4}$ cm

g = Erdbeschleunigung = 981 cm/s^2

— 1 g/cm^3

$$\mu = 2 \cdot 10^{-4} \frac{g}{cm \cdot sec.}$$

$W = 61$ cm/h

Wenn man berücksichtigt, daß die Experimentierkammer eine Höhe von 51 cm hat, so folgt daraus, daß die Teilchen mit dem Radius $1{,}25 \cdot 10^{-4}$ cm innerhalb einer Stunde sedimentierten, während die bis zu 3, 5 Std. nach der Vernebelung erhaltenen CPE durch Partikel von geringerer Größe hervorgerufen wurden.

3. Experiment

In dem im folgenden beschriebenen Versuch wurde die Schwebedauer eines Virusaerosols unter Verdünnung des Ausgangsmaterials untersucht. Wiederholte Titerbestimmungen ergaben Werte von etwa 4,8 bis $5 \cdot 10^6$/ml. Die Versuchsanordnung blieb die gleiche.

Tabelle 6 zeigt die erhaltenen Ergebnisse. Aus diesen ist zu ersehen, daß 1,5 Std. nach der Vernebelung keine Viren mehr nachzuweisen waren. Man kann daraus folgern, daß bei einem Aerosol mit vermindertem Titer die Viren für eine kürzere Zeit nachweisbar sind als bei einem solchen mit höherem Titer. Die Begründung kann darin liegen, daß das Vorkommen einer für eine Infektion ausreichenden „infection multiplicity", welches mit der Zeit abnimmt, bei einer Virussuspension mit niedrigem Titer sehr klein, d.h. selten sein kann.

Wenn man die „infection multiplicity" berücksichtigt, so muß errechnet werden, wie groß der Virusgehalt der Tröpfchen ist, die in einer Virussuspension von 0,5 ml vernebelt werden.

Die Anzahl der Tröpfchen, die in 0,5 ml vernebelter Virussuspension enthalten sind, wird wie folgt errechnet:

$$X = \frac{V}{V_1}$$

X = Anzahl der Tröpfchen

V = Volumen der vernebelten Virussuspension

V_1 = Volumen eines Tröpfchens

Das Volumen eines Tröpfchens berechnet man nach folgender Gleichung (vorausgesetzt, daß die Tröpfchen kugelförmig sind und einen Radius von $1{,}25 \cdot 10^{-4}$ besitzen):

$$V_1 = \frac{4}{3} \pi r^3 = \frac{4}{3} \cdot 3{,}14 \cdot 1{,}25^3 \cdot 10^{-12} \text{ ml}$$

$$V_1 = 8{,}12 \cdot 10^{-12} \text{ ml}$$

Die vernebelte Menge von 0,5 ml Virussuspension entspricht somit einer Tröpfchenzahl von

$$N = \frac{0{,}5}{8{,}12 \cdot 10^{-12}} = 6{,}15 \cdot 10^{10}$$

Die Zahl der Viren in 0,5 ml Virussuspension betrug $2{,}5 \cdot 10^7$ (Titer: $5 \cdot 10^7$/ml). Es erhebt sich nun die Frage, wie groß die Menge der in den Tröpfchen enthaltenen Viren

1. bei einer Titerhöhe von $5 \cdot 10^7$/ml,
2. bei der Suspension mit dem niedrigen Titer $5 \cdot 10^6$/ml ist.

Tabelle 6

Sedimentationstendenz eines Virusaerosols mit niedrigem Titer

Zeit der Exposition	Anzahl der CPE pro Schale	Relative Luftfeuchte	Temperatur
Vor Vernebelung (Leerkontrolle)	⌀	54%	22,2° C
Während der Vernebelung	++	54%	22,3° C
Unmittelbar nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	+	53%	22,2° C
30 Minuten nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	20	52%	22,3° C
1 Stunde nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	11	53%	22,1° C
1,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	8	52%	22° C
2 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	⌀	51%	22° C
2,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	⌀	50%	22° C
3 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	⌀	50%	22° C
3,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	⌀	49%	22° C

Zeichenerklärung:

++ mäßige CPE-Bildung
+ geringe CPE-Bildung
⌀ keine CPE-Bildung

Zu 1.: $\frac{615 \cdot 10^8}{25 \cdot 10^6} = \frac{615}{0{,}25} = 2460$

d.h., daß sich bei gleichmäßiger Virusverteilung in einer Menge von 2460 Tröpfchen ein Virus befindet.

Zu 2.:

Bei einem Titer von $2{,}5 \cdot 10^6/0{,}5$ ml ist in einer Menge von 24600 Tröpfchen ein Virus enthalten.

Diese Daten geben Aufschluß darüber, wie groß die Unterschiede im Virusgehalt der Tröpfchen bei verschiedenen Titerhöhen sein können. Deshalb ist mit einiger Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß die kurze Schwebedauer von Partikeln einer Virussuspension niedrigen Titers auf die Feststellbarkeit der nicht für eine Infektion ausreichende „infection multiplicity" zurückzuführen ist. Durch das folgende Säulendiagramm (Abb. 3) sollen die Sedimentationsverhältnisse bei verschiedenen Titerhöhen veranschaulicht werden.

Tabelle 7

Sedimentationstendenz des Virusaerosols bei verminderter relativer Luftfeuchte

Zeit der Exposition	Anzahl der CPE pro Schale	Relative Luftfeuchte	Temperatur
Vor Vernebelung (Leerkontrolle)	⌀	17%	22°C
Während der Vernebelung	++	17%	22,2°C
Unmittelbar nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	+	17%	22,3°C
30 Minuten nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	25	20%	22,2°C
1 Stunde nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	20	20%	22,3°C
1,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	16	20%	22,4°C
2 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	14	20%	22,5°C
2,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	7	18%	22,5°C
3 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	4	18%	22,5°C
3,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	1	19%	22,5°C

Zeichenerklärung:

++ mäßige CPE-Bildung
+ geringe CPE-Bildung
⌀ keine CPE-Bildung

4. Experiment

In diesem Versuch wurde der Einfluß der verminderten relativen Luftfeuchte (Verfahren siehe S. 278) untersucht. Tabelle 7 gibt die erhaltenen Resultate wieder. Die Viren zeigten erwartungsgemäß bei niedriger relativer Luftfeuchte eine quantitativ geringe Sedimentationstendenz, während die Schwebedauer die gleiche blieb. Die Viruskonzentration in der Kammer nahm somit bei niedriger Luftfeuchte langsamer ab, was wahrscheinlich auf die schnellere Verdunstung der äußeren Hülle der Viruströpfchen, d.h. auf die raschere Verringerung ihres Umfanges und also auch ihrer Sedimentationsgeschwindigkeit zurückzuführen ist.

5. Experiment

Es sollte der Einfluß der erhöhten relativen Luftfeuchte auf die Schwebedauer des Virusaerosols untersucht werden. Die Versuchsanordnung blieb die gleiche. Zur Erreichung der gewünschten relativen Luftfeuchte wurde mit einer Spritzflasche auf 20° C erwärmtes Aqua dest. in die Kammer gesprüht. Hierbei war darauf zu achten, daß vor der anschließenden Virusvernebelung die zur Erzielung der Luftfeuchte notwendigen Wassertröpfchen bereits sedimentiert waren. Die Luftfeuchte wurde während des Versuches mit einem Hygrometer kontrolliert. Aus Tabelle 8 ist zu ersehen, daß während

Tabelle 8

Sedimentationstendenz des Virusaerosols bei erhöhter relativer Luftfeuchte

Zeit der Exposition	Anzahl der CPE pro Schale	Relative Luftfeuchte	Temperatur
Vor Vernebelung (Leerkontrolle)	ø	88%	21° C
Während der Vernebelung	+++	90%	21,1° C
Unmittelbar nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	+++	91%	21,2° C
30 Minuten nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	51	89%	21° C
1 Stunde nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	24	88%	20,8° C
1,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	17	87%	20,8° C
2 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	13	85%	20,8° C
2,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	8	80%	20,7° C
3 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	3	80%	20,7° C
3,5 Stunden nach Vernebelung (10 Min. Exposition)	ø	80%	20,7° C

Zeichenerklärung:
+++ starke CPE-Bildung
ø keine CPE-Bildung

der ersten 30 min bei hoher Luftfeuchte bedeutend mehr Viruströpfchen sedimentierten als bei mittleren oder niedrigen Luftfeuchten. Im darauffolgenden Zeitabschnitt wurde jedoch eine kontinuierliche Abnahme der Sedimentation festgestellt. Die hohe Zahl an Viren, welche innerhalb der ersten 30 min nach der Vernebelung sedimentierten, verursachte eine rapide Verminderung der Viruskonzentration sowie damit verbunden eine Verkürzung der Schwebedauer. Aus diesem wie auch aus dem vorhergehenden Experiment ist ersichtlich, daß die Luftfeuchtigkeit einen bedeutenden Einfluß auf die Sedimentationstendenz hat. In Abbildung 3 sind die untersuchten Verhältnisse graphisch dargestellt.

6. Experiment

Es wurden die Virusmengen in verschiedenen Höhen der Kammerluft untersucht. Zu diesem Zweck wurde die Luft in Höhen von 35 cm und 55 cm abgesaugt (siehe Aspirationsverfahren). Um festzustellen, ob durch den Einfluß der in der höheren Schicht angeschlossenen Saugflasche eventuell Luftwirbel gebildet werden, die sich auf die Ergebnisse der in der tieferen Schicht saugenden Flasche auswirken könnten, wurden Kontrollversuche durchgeführt. In zwei getrennten Versuchen wurden die Luftproben einmal in der Höhe von 35 cm und in dem anderen Versuch in 55 cm Höhe eine Stunde nach Vernebelung entnommen. Die hier erhaltenen Resultate zeigten nur unwesentliche Unterschiede im Vergleich zu dem Versuch mit beiden Saugflaschen, so daß bewiesen ist, daß sich die gemeinsam arbeitenden Saugflaschen gegenseitig nicht beeinflussen.

Zum Nachweis der in der Waschflüssigkeit vorhandenen Viren wurde jeder Saugflasche 1 ml Waschflüssigkeit entnommen und damit 5 Vierkantflaschen beimpft. Bei der Zählung der CPE der oberen Saugflasche ergaben sich Mittelwerte von 21 Viren pro Milliliter. Bei Zählung der CPE der unteren Saugflasche wurden Mittelwerte von 58 Viren pro Milliliter erhalten. Daraus ergibt sich, daß mit zunehmender Höhe die Virusmenge absinkt, desgleichen die Infektiosität der Luft.

B. Staubphase

Nachweis von mit T_3-Phagen infizierten Staubpartikeln

Da die Vaccinia-Viren eine relativ hohe Infektiosität besitzen und beim Experimentator gesundheitliche Schädigungen hervorrufen könnten, wurden für den folgenden Teil der Arbeit T_3-Phagen als Versuchsmodell gewählt.

Sedimentierte mikroorganismenhaltige Staubpartikel können z. B. an Wolldecken oder an Flächen im Krankenzimmer haften. Durch verschiedene Manipulationen wie Schütteln der Decken können infizierte Fasern in die Luft gelangen. Mit infektiösen Mikroorganismen behaftete Staubpartikel können auch durch Luftströmungen infolge des Öffnens oder Schließens der Türen schwebefähig gemacht werden. Der folgende Teil dieser Arbeit ist daher von besonderer praktischer Bedeutung.

Von Interesse war, wie lange Staubpartikel in der Luft nachweisbar sind und wie sie sich in unterschiedlichen Höhen und an verschiedenen Stellen eines Raumes verhalten. Eine Teilchengrößenbestimmung sowie das Stu-

dium des Einflusses von Luftfeuchtigkeit und Raumtemperatur stehen bei dieser Fragestellung nicht im Vordergrund, auch ist eine Verstäubung von Partikeln bestimmter Teilchengröße im Hinblick auf das hier interessierende Problem nicht erforderlich.

Material und Methoden

Der Versuch wurde in einem großen, abgedunkelten Laboratoriumsraum (Höhe: 3,5 m) durchgeführt. Staub aus einem Staubsauger wurde mehrmals gesiebt und während 3 Std. bei trockener Hitze von 150–160° C sterilisiert. Der sterilisierte Staub wurde in einer Petrischale mit einer T_3-Phagensuspension vermischt (Titer: $4 \cdot 10^8$/ml) und mehrere Wochen lang in einem evakuierten, $CaCl_2$-haltigen Exsikkator getrocknet. Der getrocknete Staub wurde von der Oberfläche der Schale entfernt und in einem Mörser zerrieben. Zur Verstäubung wurden 0,5 g des infizierten Staubes auf einer großen Fläche fein verteilt und mittels einer Pipette, die an eine Preßluftpumpe angeschlossen war, eine Staubwolke erzeugt. Die Änderung der Konzentration der im Raum befindlichen Partikel wurde mit Hilfe des Sedimentationsverfahrens bestimmt.

Dazu wurden Blauagar enthaltende Petrischalen benutzt, die mit Colistamm „B/am" (gegen T_3-Phagen empfindliche Bakterien) beimpft wurden.

Die Schalen wurden an folgenden Stellen des Raumes exponiert:

1. Raummitte, Fußboden
2. Rechte Raumseite, Waschbeckenoberfläche
3. Raumecke, 1,5 m unterhalb der Decke in einem Regal
4. Linke Raumseite, 1 m oberhalb des Fußbodens auf einem Tisch
5. Linke Raumseite, Ecke, 0,5 m oberhalb des Fußbodens
6. Rechte Raumseite, Ecke, auf einem Hocker
7. An der Tür
8. Fußboden unter dem Tisch
9. Raummitte, 1 m oberhalb des Fußbodens
10. Am Fenster.

Die Expositionszeiten lagen bei 1, 2, 3 und 4 Std. nach der Verstäubung, wobei jede Petrischale 20 Min. lang der Staubwolke ausgesetzt wurde. Nach Beendigung des Versuches wurden die verschlossenen Petrischalen 24 Std. lang bei 37° C im Brutschrank aufbewahrt und abschließend mittels einer an das Plattenmikroskop angeschlossenen Kamera fotografiert. Die von den T_3-Phagen gebildeten Plaques und die Polymorphie des Staubes werden bei den Abbildungen erläutert.

Eine weitere Beobachtungsmöglichkeit wurde mit Hilfe einer Lampe geschaffen, die gebündelte Strahlen im verdunkelten Raum erzeugte. Die in dieser Phase ablaufenden Vorgänge wurden ebenfalls fotografisch festgehalten.

Ergebnisse

Es soll zunächst darüber berichtet werden, welche Feststellungen der Beobachter – mit Kopfbedeckung, Mundschutz und Schutzkleidung versehen – mit Hilfe der genannten, seitlich angebrachten Lichtquelle während des gesamten Versuches machen konnte:

Vor der Verstäubung waren Staubteilchen im seitlich einfallenden Licht kaum zu erkennen (siehe Abb. 8a). Unmittelbar nach der Verstäubung war auf der gesamten Länge des Lichtstrahles eine dichte Wolke von Partikeln zu sehen, welche sich in schnellen Bewegungen (siehe Abb. 8b) nach allen Richtungen im Raum verteilten. 30 min nach der Verstäubung wurde eine starke Sedimentation der Partikel festgestellt (siehe Abb. 8c). Bereits 1 Std. nach Verstäubung war eine außerordentlich starke Konzentrationsverminderung und eine gleichmäßige Verteilung der Partikel über den ganzen Raum

festzustellen (siehe Abb. 8e). Es wäre nun zu erwarten gewesen, daß die entstandenen Luftströmungen, hervorgerufen durch die ständige Bewegung des Beobachters im Raum sowie durch das dreimalige absichtliche Öffnen und Schließen der Tür, eine ungleichmäßige Verteilung der Staubpartikel verursacht hätten. Die in verschiedenen Höhen des Raumes gemachten Beobachtungen zeigten folgendes Ergebnis:

30 min nach der Verstäubung war die Staubmenge 0,5 m unterhalb der Raumdecke minimal (siehe Abb. 8d); die Erklärung dafür ist die oben erwähnte starke Sedimentation. 1 Std. nach Verstäubung wurde 0,5 m unterhalb der Decke eine geringere Anzahl von Staubpartikeln festgestellt als 1,5 m unterhalb der Raumdecke (vgl. Abb. 8e). Dies ist wahrscheinlich so zu erklären, daß sich die größte Menge der Staubpartikel zu dieser Zeit

Abb. 8a. Zustand des Experimentierraumes vor der Verstäubung. Auf dem Bild sind nur wenige Staubpartikel zu erkennen.
(Belichtungszeit: 1/5 Sekunde).

Abb. 8b. Unmittelbar nach der Verstäubung aufgenommene Bewegung der Staubpartikel.
(Belichtungszeit: 1/5 Sekunde)

bereits in der Sedimentation befindet. 90 min nach Verstäubung herrschten 0,5 m unterhalb der Raumdecke im Vergleich zu vorher gerade entgegengesetzte Verhältnisse, d.h. mit zunehmender Höhe nahm auch die Menge der Partikel relativ zu. Diese Erscheinung ließe sich so erklären, daß die zu jenem Zeitpunkt bereits eingesetzte gleichmäßige Verteilung der Staubpartikel im Raum ein dauerndes Schweben des Staubes in der Luft trotz der Fallgesetze dadurch ermöglicht, daß die Teilchenzahl in der Volumeneinheit in tieferen Schichten größer ist als in den höheren und dadurch eine von unten her aufwärts strömende Luftmenge mehr Teilchen in die Höhe bringt, als von dem gleichgroßen, von oben kommenden Quantum herunterbefördert wird.

Die in diesem Versuch mit Phagen erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 9 dargestellt. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß bereits 1 Std. nach Verstäu-

Abb. 8c. Erhöhte Anzahl von sedimentierenden Staubpartikeln 30 Min. nach Verstäubung. (Belichtungszeit: 1/5 Sekunde)

Abb. 8d. 30 Min. nach Verstäubung 0,5 m unterhalb der Raumdecke. Die Abbildung zeigt eine geringe Menge von Staubpartikeln. (Belichtungszeit: 1/5 Sekunde)

bung eine sehr schnelle Abnahme der Staubkonzentration erfolgt ist. Die Menge der auf die Schalen gefallenen Phagen war an allen Stellen fast gleichmäßig. 2 Std. nach Verstäubung waren nur noch wenige Phagen nachweisbar, und 3 Std. nach Verstäubung war die Anzahl der noch feststellbaren Phagen auf ein Minimum herabgesunken. 4 Std. nach Verstäubung wies keine der exponierten Schalen Phagen auf.

Interessant ist die Tatsache, daß die anhand des Lichteinfalls getroffenen Feststellungen, wie es die Abbildungen zeigen, sich in völliger Übereinstimmung mit den Ergebnissen befanden, die aufgrund der Beobachtung des Phagenwachstums auf den exponierten Petrischalen erhalten wurden.

Abb. 8e. 1 Std. nach Verstäubung 1,5 m unterhalb der Raumdecke. Die Abbildung zeigt eine völlig gleichmäßige Verteilung der Staubpartikel.
(Belichtungszeit: 1/5 Sekunde)

Tabelle 9

Sedimentationstendenz der mit T_3-Phagen infizierten Staubpartikel innerhalb eines Laboratoriumsraumes

Expositionsstellen der Petrischalen[1]	Anzahl der Phagen 1 Std. nach Verstäubung	2 Std. nach Verstäubung	3 Std. nach Verstäubung	4 Std. nach Verstäubung
1.	+	4	2	⌀
2.	+	1	1	⌀
3.	+	1	⌀	⌀
4.	+	5	2	⌀
5.	+	4	2	⌀
6.	+	4	3	⌀
7.	+	2	1	⌀
8.	+	4	1	⌀
9.	+	2	1	⌀
10.	+	1	⌀	⌀

[1] s. S. 291, Abb. 8e

\+ Anzahl der Phagen überschritt die Zählbarkeitsgrenze

⌀ keine Phagen mehr nachweisbar

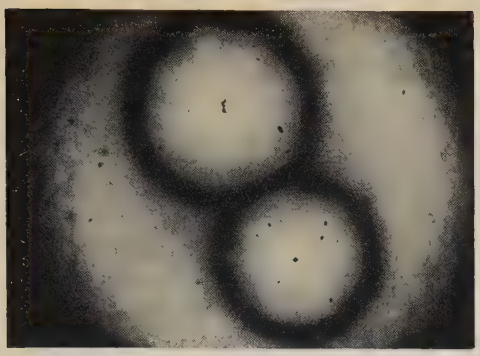
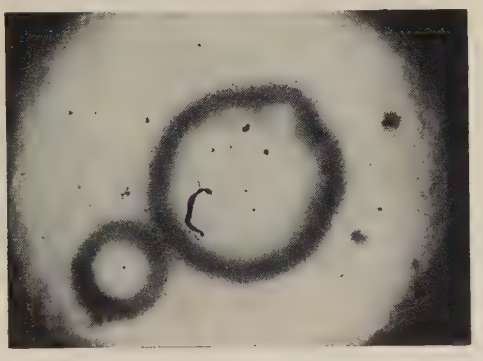


Abb. 9a



Abb, 9b

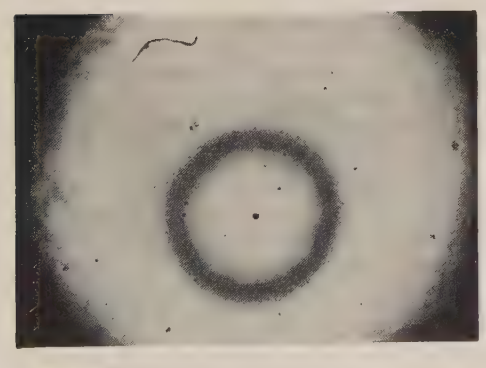


Abb. 9c

Abb. 9a, b, c. Plaques von mit T_3-Phagen beladenen Staubpartikeln. Die Abbildungen zeigen die Polymorphie des Staubes, Staubpartikelchen innerhalb des Plaques sowie solche, die keine Plaques hervorriefen.

(Mikroskopische Aufnahmen, Vergrößerung 1:33)

Diskussion

Erkrankungen wie z.B. an Pocken, an solchen des Respirationstraktes, an Masern oder Varizellen können dadurch zustandekommen, daß die Infektionserreger durch Aspiration über die Atemwege in den menschlichen Organismus gelangen. Bei diesem Infektionsmodus stellt die Schwebedauer der die Mikroorganismen tragenden Partikel in der Luft einen wichtigen Faktor dar. Um zu untersuchen, wie es durch aerogene Virusübertragung zu Infektionen kommt, muß man die physikalischen Größen kennenlernen, welche die Partikel schwebefähig erhalten. Diese Art von Schwebezustand gewinnt bei den Staubpartikeln eine besondere Bedeutung, weil dieselben großflächig und sperrig sind bei relativ geringer Masse.

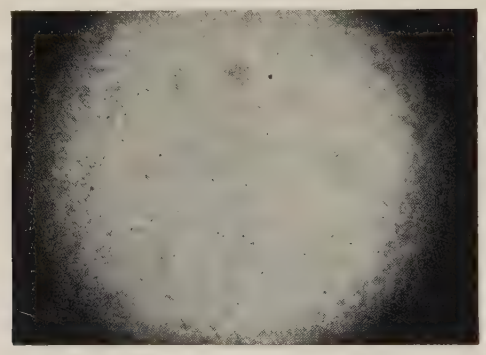


Abb. 9d. Negatives Resultat nach 4 Std.

Sedimentieren die Tröpfchenkerne („droplet nuclei")[1] (Gordon und Ingalls 1946), so können sie zusammen mit Staubpartikeln oder an diesen anhaftend wieder in die Luft gelangen („air-borne" oder „dust-borne infection")[1] (Gordon und Ingalls 1964).

Die sog. „dust-borne" Infektionsphase findet Gültigkeit bei Viren, die sich lange Zeit auf Staubpartikeln halten, wie es bei den Erregern der Pocken, Psittakose, Poliomyelitis, Influenza und Masern der Fall ist (Schwietzke 1961).

Die im Abschnitt B. experimentell erarbeiteten Daten lassen erkennen, daß die mit T_3-Phagen beladenen Staubteilchen bedeutend schneller sedimentierten, als es in der Tröpfchenphase der Fall war (unter Berücksichtigung der Höhe des Volumens und der Umweltsbedingungen der Experimentierkammer einerseits und der gleichen Verhältnisse im Laboratoriumsraum, in dem die Experimente der Staubphase durchgeführt wurden, andererseits). Die Erklärung ist darin zu sehen, daß die T_3-Phagen wahrscheinlich größtenteils mit grobdispersen Staubteilchen verbunden sind. Dafür spricht die auffallende Abnahme der Aerosol-Konzentration, bedingt durch die Sedimentation der großen Staubpartikel während der ersten 30 min nach der Verstäubung. Jedoch kann daraus die Möglichkeit bestehen, daß eine gewisse Bakterienmenge nicht mit den Staubteilchen verbunden ist (siehe Abbildung

[1] Im anglo-amerikanischen Schrifttum oft erwähnte Faktoren, für die es im deutschen Sprachgebrauch noch keine feststehenden Bezeichnungen gibt.

9a, b, c) oder die Bakterien diese Verbindung zur Zeit der Verstäubung verloren, wodurch einzelne in der Luft befindliche T_3-Phagen nicht nachgewiesen werden konnten. Wäre die Annahme richtig, daß die Phagen während der Verstäubung die Verbindung mit den Staubteilchen verloren, dann blieb die Zeit ihres Aufenthaltes in der Luft die gleiche oder übertraf sogar noch die der Tröpfchenphase, da sich auf der Oberfläche der T_3-Phagen in der Tröpfchenphase nach der völligen Verdunstung der äußeren Wasserhülle Salze und andere Stoffe befanden, die im Tropfen vorhanden gewesen waren und so eine raschere Sedimentation bedingten.

Es sollen nun die Versuchsergebnisse mit den bei der Sedimentation von Aerosolen wirksamen Faktoren in Beziehung gebracht werden.

Die Schwebedauer wird von folgenden Faktoren bestimmt:

1. Gestalt und Größe der Partikel

a) Partikelgestalt

Es wird angenommen, daß die Partikel kugelförmig sind, was mit einiger Wahrscheinlichkeit der Wirklichkeit entspricht.

b) Partikelgröße

Dieser für die Schwebedauer wie auch andere Gegebenheiten, die im folgenden noch erwähnt werden, maßgebende Faktor ist wiederum von weiteren Kräften abhängig:

Ein sehr wichtiger Faktor, der noch theoretisch untersucht werden muß, ist die Koagulation der Partikel durch die Brownsche Bewegung.

Im russischen Schrifttum (Bolotovskij 1961) ist eine Formel bekannt, die uns Auskunft über die Koagulation der Partikel durch die Brownsche Bewegung gibt. Die Lösung dieser Formel benötigt den Mittelwert der Durchmesser der Tröpfchen, die durch die Düse erzeugt werden. Leider ist uns der genaue Mittelwert der Partikel nicht bekannt (siehe Material und Methodik der Vorversuche).

Außerdem hat Shishkin (1954) gezeigt, daß bei einem Partikeldurchmesser von 2 μ eine Verminderung der Anzahl der Partikel durch die sogenannte „Brownsche Koagulation" um die Hälfte innerhalb von 70 Std. eintritt. Bedenken wir die von Remy (1949) entwickelte Theorie, daß die extreme Größenvariante, die die Partikel erreichen können, $2{,}5 \cdot 10^{-4}$ cm Durchmesser betragen kann, sowie die Angaben der Drägerwerke, wonach der Mittelwert der von der Düse erzeugten Tröpfchen nicht die Größe von $2 \cdot 10^{-4}$ cm Durchmesser übersteigt, so kommt der Koagulation der Partikel aufgrund der Brownschen Bewegung keine Bedeutung zu.

Ein Faktor, der in der Praxis der Zugwirkung in Zimmern und Fluren entspricht, wird als turbulente Koagulation (Bolotovskij 1961) bezeichnet. Darunter versteht man eine heftige Koagulation, die durch ungleichmäßige Luftbewegungen entsteht und eine Veränderung der Partikelgröße bewirken kann. Diese Form der Koagulation kann jedoch im Abschnitt A unberücksichtigt bleiben, da sich ihre Wirkung nur auf einen kurzen Zeitraum während der Vernebelung erstreckt und sich derartige ungleichmäßige Luftbewegungen beim vorsichtigen Manipulieren in der Kammer vermeiden lassen. Eine Kollision der Partikel aufgrund der Unterschiede in der Fallgeschwindigkeit ist nach den von Langmuir (1948) durchgeführten Berechnungen auszuschließen.

Ein außerordentlich wichtiger Faktor ist die Koagulation der Partikel aufgrund ihrer elektrischen Ladung (Bolotovskij 1961). Über die Wirkung der elektrischen Koagulation können keine Aussagen gemacht werden, da die elektrische Beladung der Partikel nicht untersucht wurde. Die Annahme, daß bei künstlicher Erzeugung von Aerosolen Unipolarität erreicht wird, ist so gut wie auszuschließen. Es ist jedoch mit einiger Sicherheit anzunehmen, daß sich nach einer gewissen Zeit auch bei künstlichen Aerosolen die Schwebepartikel aufladen, indem sie Gasionen aus der Luft adsorbieren. Der Vorgang der Aufladung ist als Diffusionsprozeß der Kleinionen in das Partikel anzusehen (Kühn 1948). Dabei nehmen die Partikel eine Grenzladung an, die von der Höhe der ursprünglichen Ionendichte nur unwesentlich abhängt. Wäre das der Fall, dann müßte man mit einer Änderung der Partikelgröße rechnen.

2. Relative Luftfeuchte

Die durchgeführten Experimente haben gezeigt, daß die relative Luftfeuchte einen großen Einfluß auf die Schwebedauer der Partikel hat. Als Resultat der Versuche wurde die Feststellung gemacht, daß eine hohe Viruskonzentration am längsten bei niedriger Luftfeuchtigkeit erhalten bleibt, was auf die schnellere Verdunstung der äußeren Hülle der virushaltigen Tröpfchen, d.h. die raschere Verringerung ihres Umfanges und damit auch ihrer Sedimentationsgeschwindigkeit zurückzuführen ist. Bei Erhöhung der Luftfeuchtigkeit verringerte sich die Geschwindigkeit der Verdunstung, und die Tröpfchen sedimentierten schneller.

Die Größe der Partikel ist nicht nur für die Schwebedauer von Einfluß, sondern auch maßgebend für die Befallsstellen des Respirationstraktes. Nach Noble et al. (1963) beträgt der Durchmesser von menschenpathogenen Schwebepartikeln zwischen 4 μ und 20 μ. Folgende Daten stehen zur Verfügung hinsichtlich der Ablagerung eines polydispersen Aerosols in verschiedenen Teilen des tierischen Respirationssystems:

In Experimenten mit Kaninchen (Buckland et al. 1950) wurde gefunden, daß beim Inhalieren eines Aerosols mit einem Partikelradius von 0,5 μ sich 29% der Partikel im Naseopharynx absetzten, 13–19% in den Luftröhren und 51–58% in den Lungenbläschen. Partikel mit einem Radius von 2 μ waren zu 65% und solche mit einem Radius von 4 μ zu 98% im Nasopharynx nachweisbar.

Versuche an Mäusen (Shoshkes 1950) zeigten die folgende Partikelverteilung auf Bronchien, Bronchienbläschen und Lungenbläschen: Partikel von 0,2–0,62 μ Radius wurden in einem Prozentsatz von 26%, 32% und 42% gefunden und solche mit einem Radius von 1,46–1,88 μ zu 48% bzw. 15%.

Danach kann die Schlußfolgerung gezogen werden, daß die inhalierten Partikel der Virussuspensiom um so tiefer in den Respirationstrakt eindringen, je geringer ihr Umfang ist.

3. Virusgehalt eines Tröpfchens

Es wurde in den Versuchen festgestellt, daß in einem Aerosol mit höherem Titer längere Zeit Viren nachgewiesen werden können als in einem solchen mit niedrigerem Titer. Will man den Virusgehalt eines Tröpfchens bei bestimmtem Titer feststellen, so ist zunächst die Berechnung des Volumens eines Tröpfchens erforderlich, die mit der auf Seite 288 angegebenen Formel vorgenommen werden kann.

Begründung:

a) Dies hängt wahrscheinlich mit der „infection multiplicity" zusammen, d.h. mit der Anzahl an Viren, die notwendig sind, um einen cytopathogenen Effekt auszulösen. Daraus folgt, daß bei Aerosolen mit hohem Titer eine Möglichkeit für eine größere „infection multiplicity" vorliegen muß als bei solchen mit niedrigem Titer.

b) Die Wahrscheinlichkeit der Nachweisbarkeit nimmt mit der Zeit bei niedrigem Titer eher ab als bei einem hohen.

Als Ort für die Entstehung und Weiterverbreitung von infektiösen Aerosolen ist in der Praxis

a) das Krankenhausmilieu anzusehen, in dem die Tröpfchen durch Niesen, Husten oder Sprechen der Kranken oder der Virusträger in die Luft gelangen. Hier spielt die Luft als Träger von Infektionserregern eine wichtige Rolle im circulus vitiosus des Hospitalismus (Henneberg 1963). Deshalb ist die Erziehung und Aufklärung aller Personen, die es angeht, von außerordentlicher Bedeutung (u.a. bei Henneberg 1961). Die Tatsache, daß die Übertragung der Hepatitis, die wahrscheinlich z.Z. als häufigste Krankheit im Rahmen des Hospitalismus zu gelten hat, auch dadurch zustandekommen kann,

daß die von den Kranken ausgeschiedenen Tröpfchen in die Luft gelangen und vielleicht auch an dem Routine-Instrumentarium (Sonden, Pinzetten, Katheter, Spritzen etc.) haften bleiben, bestätigt völlig die Einstellung Hennebergs zu diesem Problem auch auf der Erziehungsbasis.

Als letztes wäre die Verhütung aerogen übertragener Infektionskrankheiten in Kinderkliniken zu nennen. Dabei ist die Schaffung von einzelnen Boxen mit höchstens zwei Betten, Luftentkeimung der Räume durch UV-Bestrahlung, Ausschaltung von weiteren Übertragungsmöglichkeiten wie Türklinken, Wasserleitungshähne etc. durch die Einführung von Ellenbogen- und Fußbedienung von besonderer Bedeutung. Damit konnten, wie ich es 1965 kennenlernte, in der Infektionsabteilung der Städtischen Kinderklinik Berlin-Charlottenburg (Klinikdirektor: Prof. Dr. Wiesener) beachtliche Erfolge erzielt werden.

b) Im Laboratorium können infektiöse Aerosole auf vielerlei Arten entstehen (Albrecht 1961). Es kann beinahe jeder Arbeitsvorgang zur Bildung eines Aerosols, das unter Umständen infektiös sein kann, führen. Dabei ist die Entstehungsquelle dieses Aerosols in den meisten Fällen nicht weit von Nase und Mund der im Laboratorium arbeitenden Personen entfernt. Meistens handelt es sich um ein polydisperses Aerosol, welches dann entstehen kann, wenn schnell bewegte Flüssigkeiten beim Auftreffen auf ein Hindernis plötzlich sehr stark gebremst werden und dadurch ein Zersprühen derselben erfolgt. Allgemein liegen nur wenige Partikel in einer solchen Größenordnung vor, daß sie selbst bei ruhiger Luft schwebend bleiben. Die Schwebefähigkeit der Keime tragenden Teilchen wird auf folgende Weise erreicht: Entweder verdampft in der trockenen Laboratoriumsluft die Flüssigkeit von größeren Partikeln schnell, oder die auf Flächen versprühten Keime werden nach dem Eintrocknen gemeinsam mit Staubpartikeln oder an diesen anhaftend in die Luft getragen („air-borne" bzw. „dust-borne infection").

Bei folgenden Arbeitsgängen im Laboratorium können infektiöse Aerosole entstehen:

1. Wenn man keimhaltige Flüssigkeiten mittels Pipetten mischt oder diese aus Pipetten ausgeblasen werden, entsteht nicht selten ein aus zahlreichen Tröpfchen bestehendes Aerosol.
2. Wenn man zum Überimpfen oder anderweitigen Verarbeiten von Kulturen eine ausgeglühte Metallöse benutzt, kann beim schnellen Bewegen derselben durch die Luft der darin befindliche Flüssigkeitsfilm zerreißen und so die Luft infizieren. Ferner können Aerosole entstehen beim Ausglühen von Ösen, beim Eintauchen heißer Ösen in Flüssigkeiten oder durch die Vibration von Ösen z. B. beim Ausstreichen von Kulturen auf Objektträger.
3. Wenn flüssige Keimkulturen in Schüttelapparaten, Mixern, Fermentern, Spritzen, durch Rührwerke oder Ultraschall oder in Zentrifugen heftig und abrupt bewegt werden, können sich Aerosole bilden. Sind die Kulturbehälter verschlossen, so entweicht das Aerosol erst beim Öffnen der Gefäße.
4. Auch beim Arbeiten mit Mörsern und dergleichen zum Zerkleinern fester Keimkulturen oder infizierter Materialien kann ein Aerosol gebildet werden.
5. Es besteht ferner die Möglichkeit, daß beim Gefriertrocknungsverfahren, und zwar sowohl beim Trocknen selbst als auch beim Öffnen der unter Vakuum stehenden Glasgefäße, die Mikroorganismen in die umgebende Raumluft entweichen können.

c) Die im Tierstall befindlichen infizierten Versuchstiere (z. B. Psittakose, Fleckfieber) stellen eine Gefahrenquelle ersten Ranges dar. Durch die Ausscheidungen der Tiere wird eine Anreicherung der Stalluft mit virushaltigen Tröpfchen bzw. infektiösen Staubpartikeln bewirkt. Die sich ständig bewegenden Tiere sorgen für eine dauernde Aufwirbelung des durch die Ausscheidungen infizierten Staubes.

Die Beantwortung der Frage, ob eine aerogene Virusübertragung im freien Gelände möglich ist, z. B. durch offenstehende Fenster eines Krankenzimmers oder durch Entlüftung von Laboratoriumsräumen, in denen infektiös gearbeitet wird; ferner ob die bereits experimentell festgestellte Anemochorie (Weltzien) (aerogene Übertragung pflanzenpathogener Pilze) auch für Viren Gültigkeit hat, ist außerordentlich schwierig. Betrachtet man die Verhältnisse, unter denen Viren in umschlossenen Räumen übertragen werden, so nimmt die Wahrscheinlichkeit einer aerogenen Infektion mit der Schwebedauer der Partikel zu. Die Schwebedauer wiederum ist von der Luftbewegung abhängig, d. h. bei gleichmäßiger Luftbewegung bleiben die Partikel länger im Schwebezustand. Tritt eine Luftaufwirbelung ein, dann sedi-

mentieren die Aerosole schneller, wobei sie in Aerogele übergehen. Sie bleiben auf den Flächen haften, bis sie durch die nächste Aufwirbelung wieder in die Luft gelangen.

Völlig anders dagegen sind die Verhältnisse im freien Gelände. Hier erzeugen praktisch alle Luftströmungen Wirbel, die entweder durch eine Grenzschichtreibung oder durch Hindernisse (Häuser, Räume etc.) hervorgerufen werden. Durch dieses Phänomen kann demnach die Wirkung der Fallgesetze bei einem Staubpartikel in der Atmosphäre weitgehend aufgehoben werden. Dabei kann natürlich die Flughöhe praktisch unbegrenzt sein. Da die hierbei entstehende Verdünnung der Konzentration der Partikel mit zunehmender Flughöhe größer wird, ist eine Verringerung der Infektionswahrscheinlichkeit im freien Gelände anzunehmen. Ausgehend von diesen theoretischen Überlegungen scheint die Möglichkeit einer Virusübertragung in den Verhältnissen des freien Geländes (z. B. in der näheren Umgebung von Krankenhäusern) äußerst gering zu sein. Allerdings darf dabei die Resistenz einiger Virusarten auf Staub nicht ganz außer Acht gelassen werden, da es immerhin möglich wäre, daß diese Eigenschaft eine Übertragung der betreffenden Viren unter Umständen begünstigen könnte.

Im Vergleich zu dem Studium der aerogenen Virusübertragung in umschlossenen Räumen würde eine Untersuchung der Virusübertragung im freien Gelände – allein schon im Hinblick auf die Nachweisbarkeit – auf weit größere Schwierigkeiten stoßen.

Zusammenfassung

Zur Feststellung der Gesetzmäßigkeiten der Verbreitung von Viren durch Aerosole (Staub, Tröpfchen) wurden Experimente über die Sedimentation der Teilchen unter verschiedenen Bedingungen der Größe der Teilchen, der relativen Luftfeuchtigkeit und der Lufttemperatur durchgeführt. Als Modellviren wurden wegen der einfachen Nachweisbarkeit T_3-Bakteriophagen und wegen des besonderen Interesses Vaccineviren benutzt. Zum Nachweis der Viren in der Luft mußten Verfahren erprobt werden. Bis zu 3,5 Std. konnten Viren, die mit dem Staub oder den Tröpfchen sedimentierten, nachgewiesen werden. Aus den Experimentierergebnissen werden für die Verbreitung von Infektionserregern Schlußfolgerungen gezogen.

Schrifttum

1. Albrecht, J.: Zur quantitativen Bestimmung von Luftkeimen. Arch. Hyg. **139**, 109 (1955).
2. – Gefährdung durch infektiöse Aerosole im Laboratorium. Fortschritte der biol. Aerosol-Forschung, S. 148, 1962.
3. Anders, W.: Epidemiographie der Pockeneinschleppung nach Europa. Abhandl. a. d. Bundesgesundheitsamt, Heft 7, 9 (1963).
4. Bellett, A. J. D.: Use of Pardee's CO_2 buffer in plaque titration of EMC virus. Virology **10**, 285 (1960).
5. Bolotovskij, V. M.: Theoretical premises of the work of the IBK-1 aerosol chamber for the study of experimental respiratory infections. I. Dynamics of the work of the aerosol chamber. Vop. Virus. **6**, 454 (1961).
6. Buckland, F. et al.: Nature, London, **166**, 354 (1950).
7. Bundesminister für Gesundheitswesen: Erlaß I A 3 – 4212 – 162 – 2408/63 vom 19. 8. 1963 betr. Ausrottung der Pocken.
8. Carlson, S., Husmann, K. H., Hüter, J.: Zur Filterung der Keime aus der Luft. Zbl. biol. Aerosol-Forsch. **9**, 334 (1960/1961).

9. Ferry, R. M., Farr, L. E., Hartman, M. G.: The preparation and measurement of the concentration of dilute bacterial aerosols. Chem. Rev. **44**, 389 (1949).
10. Ferry, R. M., Farr, L. E. et al.: A study of freshly generated bacterial aerosols of Micrococcus candidus and Escherichia coli. J. Inf. Dis. **88**, 256 (1951).
11. Gaidamovich, S. J., Vlodavets, W. W.: Die Feststellung von minimalen Influenzavirus-Konzentrationen in der Tröpfchenphase des Aerosols. Vop. Virus. **3**, 349 (1963).
12. Gordon, J. E., Ingalls, T. H.: Photography of air-borne particles during bacteriological plating operations. J. Inf. Dis. **78**, 238 (1946).
13. Gucker, F. T., O'konski, C. T.: Electronic methods of counting aerosol particles. Chem. Rev. **44**, 373 (1949).
14. Heicken, K.: Praxis der Pockenbekämpfung. Abhandl. a. d. Bundesgesundheitsamt, Heft 7 (1963).
15. Henneberg, G.: Hospitalismus, ein Problem der Aufklärung und Erziehung. Medizinal-Markt **9**, 284 (1961).
16. Henneberg, G., Köhler, H.: Praktikum der Virusdiagnostik. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1961.
17. Henneberg, G.: Die Bekämpfung des Hospitalismus aus der Sicht des Hygienikers. Die Agnes Karll Schwestern **17**, 130 (1963).
18. Kliewe, H., v. Wasielewski, E.: Z. Hyg. **134**, 1 (1952). Physikalische Eigenschaften von keimtötenden Aerosolen u. künstl. Keimnebeln.
19. Koch, R.: in: Handbuch pathogener Mikroorganismen, von Hahn, M. X. **37**, 533 (1929).
20. Kühn, A.: Kolloidchemisches Taschenbuch, Leipzig, 1948, S. 287–290.
21. Langmuir, J.: J. Meteor. **5**, 175 (1948).
22. Mac Callum, F. O.: Airborne Spread of Smallpox. Symposium Internationsl sur la Vaccination antivariolique. Lyon, 7.–9. Dec. 1962. Section permanente de standardisation biologique Ass. Int. des Soc. Microbiol.
23. Noble, W. C., Lidwell, O. M., Kingston, D.: The size distribution of airborne particles carrying micro-organisms. J. Hyg., Camb. **61**, 385 (1963).
24. Pardee, A. B.: J. Biol. Chem. **179**, 1085 (1949).
25. Reitman, M., Wedum, A. G.: Microbiological safety. Publ. Hlth. Rep. **71**, 659 (1956).
26. Remy: Lehrbuch der anorgischen Chemie, II. Bd., 4./5. Aufl., Leipzig, 1949.
27. Rosebury, T.: Experimental air-borne infection. Baltimore, 1947.
28. Schwietzke, A. M.: Die Epidemiologie des Hospitalismus. Medizinal-Markt **9**, 285 (1961).
29. Shishkin, N. S.: Clouds, rainfall and electricity thunderstorms. Moskau, 1954.
30. Shoshkes, M. et al.: Arch. Indust. Hyg. **1**, 20 (1950).
31. Sirgensons-Straumanis: Kurzes Lehrbuch der Kolloidchemie, S. 268, S. 270 (1949).
32. Weltzien, H. C.: Die Ausbreitung von Pflanzenkrankheiten durch die Luft (Vortrag). Bericht über den 4. Aerosol-Kongreß in Bad Lippspringe/Westf.: Fortschritte der biologischen Aerosolforschung in den Jahren 1957–1961. Herausg. v. Nückel, H.
33. Meiklejohn, G., Kempe, C. H., Downie, A. W., Berge, T. O., Vincent, L. St., Rao, A. R.: Air Sampling to Recover Variola Virus in the Environment of a Smallpox Hospital. Bull. Wld. Hlth. Org., **25**, 63–67. Luftproben aus einer mit Pockenkranken belegten Station wurden auf die Anwesenheit von Viren untersucht. Überraschenderweise wurden Viren nur in einer Probe festgestellt, alle anderen Tests blieben negativ.
34. Dahlgren, Ch. M., Decker, H. M. and Harstad, J. B.: A Slit Sampler for Collecting T-3 Bacteriophage and Venezuelan Equine Encephalomyelitis Virus. (Mit dem slit sampler konnten T-3 Bakteriophagenpartikel in genügender Anzahl in der infizierten Luft nachgewiesen werden. Appl. Microbiol., 9, 103–105 (1961).
35. Harper, G. J.: Airborne micro-organisms: survival tests with four viruses. J. Hyg., Camb. **59**, 479 (1961).
36. Hemmes, J. H., Winkler, K. C., Kool, S. M.: Virus Survival as a Seasonal Factor in Influenza and Poliomyelitis. Nature 188, 430–431 (1960).

Jakob Petmezakis, Robert Koch-Institut, 1 Berlin 65, Nordufer 20

Lebenslauf

Ich, Jakob Petmezakis, wurde am 24. 11. 1940 als Sohn des Bäckermeisters Georg Petmezakis und seiner Ehefrau Giasemo geb. Athanasiou in Samos geboren.

Von 1946–1948 besuchte ich die Volksschule in Samos, danach bis 1952 die Volksschule in Athen. Von 1952–1958 besuchte ich ein Gymnasium in Athen, welches ich mit dem Abitur absolvierte.

Im Sommersemester 1960 wurde ich zum Studium an der Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin zugelassen. Die ärztliche Vorprüfung habe ich im Wintersemester 1963 vor dem Prüfungsausschuß der Freien Universität Berlin abgelegt.

Im Sommersemester 1966 habe ich das Studium abgeschlossen. Während meines klinischen Studiums habe ich unter Leitung von Herrn Prof. Dr. G. Henneberg im Robert Koch-Institut, Berlin, an einer Dissertation mit dem Thema „Zum Nachweis aerogen übertragener Viren Versuche über die Sedimentation von Virus in Aerosolen" gearbeitet.

Sonderdruck aus „Zentralblatt für Bakteriologie I Originale" Band 201 (1966)